·论著·

活血通络法对激素性股骨头坏死囊性变患者血清骨吸收/成血管/成骨蛋白调节作用的研究

何宪顺[1,2]，韦雨柔[1,2]，何敏聪[2,3]，林锟[1,2]，田佳庆[1,2]，詹芝玮[1,2]，林天烨[2,3]，何晓铭[2,3]，何伟[2,3]，魏秋实[2,3*]

中国临床试验注册中心注册号：ChiCTR-OPC-15007030
1.510378 广东省广州市，广州中医药大学第三临床医学院
2.510378 广东省广州市，广东省中医骨伤研究院
3.510378 广东省广州市，广州中医药大学第三附属医院关节科
*通信作者：魏秋实，副主任医师/副教授/博士生导师；E-mail：weiqshi@126.com

【摘要】 **背景** 激素性股骨头坏死（SIONFH）中囊性变具有“双刃剑”作用，活血通络法对早期激素性股骨头坏死疗效佳，但对囊性变骨吸收/成血管/成骨蛋白调节作用尚未明确。**目的** 探讨活血通络法对激素性股骨头坏死囊性变患者血清骨吸收/成血管/成骨蛋白作用的影响。**方法** 纳入2019年1月—2021年1月在广州中医药大学髋关节研究中心收治的60例SIONFH患者为研究对象，按随机数字表法分成两组，对照组和治疗组各30例。另选取同时期在医院体检正常且无激素使用史30例志愿者作为正常组。治疗组给予活血通络胶囊（2 g/次，3次/d）及碳酸钙（600 mg/次，1次/d）治疗，对照组给予等量碳酸钙治疗，两组患者疗程均为12个月，同时患肢加以限制性负重。采集空腹血清，采用酶联免疫吸附试验检测血清血清核因子κB受体活化因子配体（RANKL）、血小板衍生生长因子-BB（PDGF-BB）、血管内皮生长因子A（VEGFA）、骨保护素（OPG）、钙黏蛋白相关蛋白（CTNNB1）的表达水平结果，以门诊复诊方式分别于患者出院后第6、12个月进行2次随访，以股骨头塌陷定义为终点事件。以髋关节疼痛视觉模拟评分（VAS）、髋关节功能（Harris）评分和坏死面积评分进行疗效评估。**结果** 3组研究对象基线RANKL、PDGF-BB、OPG、CTNNB1水平比较，差异均有统计学意义（P<0.05），组间比较结果显示，对照组、治疗组RANKL、PDGF-BB均高于正常组，OPG、CTNNB1均低于正常组，差异有统计学意义（P<0.05）。重复测量方差分析结果示，时间和组别对RANKL、PDGF-BB、VEGFA、OPG、CTNNB1水平存在交互作用（P<0.05），时间和组别对RANKL、PDGF-BB、VEGFA、OPG、CTNNB1水平主效应显著（P<0.05）。其中第6个月治疗组RANKL水平高于对照组，第12个月治疗组PDGF-BB水平高于对照组，第6个月、第12个月VEGFA、OPG、CTNNB1水平高于对照组，差异有统计学意义（P<0.05）。治疗后第12个月治疗组髋关节VAS评分、坏死面积评分低于对照组，髋关节Harris评分高于对照组，差异有统计学意义（P<0.05）。组内比较结果显示，治疗后第12个月治疗组髋关节VAS评分、坏死面积评分低于治疗前，髋关节Harris评分高于治疗前，差异有统计学意义（P<0.05），对照组髋关节VAS评分、髋关节Harris评分高于治疗前，差异有统计学意义（P<0.05）。**结论** 活血通络法能上调激素性股骨头坏死患者RANKL、PDGF-BB、VEGFA、OPG和CTNNB1蛋白表达水平，有效促进SIONFH患者骨修复及改善临床症状，推测该药通过“骨吸收/成血管/成骨”三元修复网络促进囊性变骨修复作用。

【关键词】 股骨头坏死；激素性股骨头坏死；髋关节病；活血通络；骨吸收/成血管/成骨蛋白
【中图分类号】 R 681.8　【文献标识码】 A　DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0463

Regulation of Activating Blood and Dredging Collate Method on Serum Bone Resorption/Angiogenesis/Osteogenic Protein in Patients with Steriod-induced Osteonecrosis of Femoral Head

基金项目：国家自然科学基金面上项目（82274544）；国家自然科学基金青年项目（82004392）；广州中医药大学“双一流”与高水平大学学科协同创新团队培育项目（2021XK41）；广东省新黄埔中医药联合创新研究院2022年度第一批联合创新研究项目（2022IR012）；毕节市科学技术局2022年度“揭榜挂帅”项目（毕科合重大专项〔2022〕1号）

引用本文：何宪顺，韦雨柔，何敏聪，等.活血通络法对激素性股骨头坏死囊性变患者血清骨吸收/成血管/成骨蛋白调节作用的研究[J].中国全科医学，2023.DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0463.[Epub ahead of print].[www.chinagp.net]

HE X S，WEI Y R，HE M C，et al. Regulation of activating blood and dredging collate method on serum bone resorption/angiogenesis/osteogenic protein in patients with steriod-induced osteonecrosis of femoral head cystic degeneration[J]. Chinese General Practice，2023.[Epub ahead of print].

Cystic Degeneration

HE Xianshun[1, 2], *WEI Yurou*[1, 2], *HE Mincong*[2, 3], *LIN Kun*[1, 2], *TIAN Jiaqing*[1, 2], *ZHAN Zhiwei*[1, 2], *LIN Tianye*[2, 3], *HE Xiaoming*[2, 3], *HE wei*[2, 3], *WEI Qiushi*[2, 3*]

1.The Third Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510378, China

2.Guangdong Research Institute for Orthopedics and Traumatology of Chinese Medicine, Guangzhou 510378, China

3.Department of arthropathy, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510378, China

Corresponding author: WEI Qiushi, Associate chief physician/Associate professor/Doctoral supervisor; E-mail: weiqshi@126.com.

【Abstract】 **Background** Steriod-induced osteonecrosis of femoral head (SIONFH) cystic degeneration have a "double-edged sword" effect. The method of activating blood and dredging collate is effective in the treatment of early SIONFH, but its regulatory effect on bone resorption/angiogenesis/osteogenic protein in cystic degeneration remains unclear. **Objective** To investigate the effect of activating blood and dredging collate method on serum bone resorption/angiogenesis/osteogenic protein in patients with cystic degeneration of SIONFH. **Methods** Sixty patients with SIONFH admitted to the Hip Joint Research Center of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine from January 2019 to January 2021 were included as the study subjects and divided into the control group and treatment group according to random number table method, with 30 cases in each group. Another 30 volunteers with normal physical examination in hospital at the same period and no history of hormone use were selected as the normal group. The treatment group was treated with Huoxuetongluo capsule (2 g/time, 3 times/day) and calcium carbonate (600 mg/ time, 1 time/day), the control group was treated with the same amount of calcium carbonate, and the course of treatment of both groups was 12 months, simultaneously limiting weight-bearing on the affected limb. Fasting serum was collected, and the expression levels of nuclear factor κB receptor activating factor ligand (RANKL), platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB), vascular endothelial growth factor A (VEGFA), osteoprotegerin (OPG) and cadherin-associated protein (CTNNB1) in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The patients were followed up twice at the 6th and 12th month after discharge, and the collapse of femoral head was defined as the end event. Hip pain visual analogue score (VAS), hip function (Harris) score and necrotic area score were used to evaluate the efficacy. **Results** Baseline RANKL, PDGF-BB, OPG and CTNNB1 levels were compared among the three groups, and the differences were statistically significant (P<0.05). The results of intergroup comparison showed that RANKL and PDGF-BB in the control group and treatment group were higher than those in the normal group, while OPG and CTNNB1 were lower than those in the normal group, the difference was statistically significant (P<0.05). Repeated measurement ANOVA results showed that time and group had interaction effects on RANKL, PDGF-BB, VEGFA, OPG and CTNNB1 levels (P<0.05), time and group had significant main effect on RANKL, PDGF-BB, VEGFA, OPG and CTNNB1 levels (P<0.05). The level of RANKL in the treatment group was higher than that in the control group at the 6th month, the level of PDGF-BB in the treatment group was higher than that in the control group at the 12th month, and the levels of VEGFA, OPG and CTNNB1 were higher than those in the control group at the 6th and 12th months, with statistically significant difference (P<0.05). At the 12 months after treatment, the hip VAS and necrotic area score of the treatment group were lower than those of the control group, and the hip Harris score was higher than that of the control group, with statistically significant difference (P<0.05). The results of intragroup comparison showed that at 12 months after treatment, hip VAS and necrotic area score in the treatment group were lower than those before treatment, and hip Harris score was higher than that before treatment, with statistically significant difference (P<0.05); hip VAS and hip Harris score in the control group were higher than those before treatment, the difference was statistically significant (P<0.05). **Conclusion** Activating blood and dredging collate method can up-regulate the protein expression levels of RANKL, PDGF-BB, VEGFA, OPG and CTNNB1 in patients with SIONFH, effectively promote bone repair and improve clinical symptoms of SIONFH patients. It is hypothesized that this drug can promote the bone repair of cystic degeneration through the "bone resorption/angiogenesis/osteogenesis" repair network.

【Key words】 Femur head necrosis; Steriod-induced osteonecrosis of femoral head; Coxarthrosis; Activating blood dredging collaterals; Bone resorption/angiogenesis/osteogenic protein

激素性股骨头坏死（steriod-induced osteonecrosis of femoral head，SIONFH）是长时间大量应用糖皮质激素引起的骨坏死疾病，好发于20~50岁中青年人群，发病率逐年增高，其病程长、致残率高、防治难度大，对保

髋治疗带来巨大的挑战[1-2]。目前研究发现，SIONFH发展中囊性变的出现蕴含着特殊临床意义：一方面囊性变能反应坏死区内有骨修复反应，另一方面内囊性变出现会使髋关节承重能力锐减，软骨时刻遭受异常应力，导致局部骨小梁骨折，成为股骨头塌陷的驱动因素[2-4]。因此探究如何促进囊性变内骨修复活动成为治疗早期 SIONFH 的关键因素。

SIONFH 属于中医学的“骨蚀”范畴，目前国内外对其治疗尚缺乏特效药，本课题组专家在长期临床诊疗中总结出血瘀是不同病因股骨头坏死的主要证候[5-6]，建立了股骨头坏死络病理论[7]，治疗上应以活血通络为核心。因此，团队专家临床上在桃红四物汤经方基础上化裁、研发治疗股骨头坏死的院内制剂用药——活血通络胶囊，其由木豆叶、当归尾、川芎、赤芍、熟地、桃仁、红花等七味药物组成，全方以活血通络、祛瘀止痛为功效，课题组前期体内外实验已发现其有促进成骨作用[8-11]，但对 SIONFH 囊性变患者的骨修复蛋白调控尚需进一步探究，并且血清核因子 κB 受体活化因子配体（RANKL）、血小板衍生生长因子-BB（PDGF-BB）、血管内皮生长因子 A（VEGFA）、骨保护素（OPG）、钙黏蛋白相关蛋白（CTNNB1）已被证实是骨修复过程中的重要骨吸收、成血管、成骨蛋白[12-16]。故本研究运用活血通络胶囊治疗 SIONFH，探索该药对 SIONFH 囊性变内的骨修复蛋白作用，以期为中医药对 SIONFH 的保髋治疗提供理论依据。

1 对象与方法

1.1 样本量和检验效能计算

使用 GPower3 软件，根据多因素重复测量方差分析样本量计算公式：

$$n_a=(\sigma_a^2+\sigma_b^2/k)\left(\frac{z_{1-\alpha/2}+z_{1-\beta}}{u_A-u_B}\right)^2;$$

$$n_b=kn_a;$$

$$1-\beta=\phi\left(\frac{|u_A-u_B|\sqrt{n_a}}{\sigma_a^2+\sigma_b^2/k}-z_{1-a/\tau}\right)$$

效应量 0.25，设 α=0.05，检验效能 $1-\beta$=0.8，k 为分组数，τ 为重复测量数，计算最小每组样本例数为 11，考虑 20% 的失访率，为满足分组后各组最小样本量，招募患者数定为 60。

1.2 研究对象

纳入 2019 年 1 月—2021 年 1 月在广州中医药大学髋关节研究中心收治的 60 例符合纳入、排除标准的 SIONFH 患者为研究对象，按随机数字表法分成两组，对照组和治疗组各 30 例。另选取同时期在医院体检正常且无激素使用史 30 例志愿者作为正常组。其中本研究符合赫尔辛基宣言，研究对象在纳入研究前均签署知情同意书并经医院伦理委员会批准（编号：2015010）。本研究在中国临床试验注册中心注册（注册号：ChiCTR-OPC-15007030）。

1.3 纳入标准

（1）参照《中国成人股骨头坏死临床诊疗指南（2020）》[12]中的诊断标准，通过临床体格检查、影像学诊断为 SIONFH 者；（2）髋关节影像学显示有囊性改变者；（3）患者采血前未予任何治疗措施。

1.4 排除标准

（1）对活血通络胶囊已知成分存在过敏反应者；（2）有髋关节外伤史的患者；（3）严重先天性髋关节畸形患者；（4）严重骨代谢疾病患者；（5）患有有任何可能影响髋关节的疾病，包括类风湿性关节炎、强直性脊柱炎、关节结核、化脓性关节炎等的患者；（6）依从性差，影响效应指标观测者；（7）试验开始后自行退出者；（8）未遵循研究方案完成全部研究的病例；（9）失访者。

1.5 研究方法

1.5.1 主要试剂和仪器：RANKL（货号：CSB-E05125h）、PDGF-BB（货号：CSB-E08923h）、VEGFA（货号：CSB-E11718h）、OPG（货号：CSB-E04692h）、CTNNB1（货号：CSB-E08963h）人血清酶联免疫吸附（ELISA）测定试剂盒（购自武汉 cusabio），活血通络胶囊（院内制剂），碳酸钙（惠氏制药有限公司，批号：H20110003）；低温离心机（eppendorf），超净工作台（青岛海尔特种电器有限公司），全波长酶标仪（Thermo Scientific），恒温摇床（江苏泰康）。

1.5.2 治疗方案：治疗组给予活血通络胶囊（2 g/ 次，3 次 /d）及碳酸钙（600 mg/ 次，1 次 /d）治疗，对照组给予等量碳酸钙治疗。两组患者疗程均为 12 个月，同时患侧均加以拄拐限制负重及限制运动。正常组未进行后续干预。

1.5.3 血液标本采集：治疗组和对照组分别在治疗开始时（第 0 个月）、服用药物治疗后的第 6 个月、第 12 个月时用真空采血管分别采集空腹静脉血 5 mL，置于 4 ℃冰箱自然凝固后 1 000 r/min 离心 15 min（离心半径 10 cm），提取血清，分装后置于 -80 ℃冰箱保存备用。正常组仅采集第 0 个月血液标本。

1.5.4 参考试剂盒说明书，采用 ELISA 法检测血清 RANKL、PDGF-BB、VEGFA、OPG 和 CTNNB1 的表达水平。

1.5.5 随访：以门诊复诊方式分别于患者出院后第 6、12 个月进行 2 次随访，随访指标包括 RANKL、PDGF-BB、VEGFA、OPG、CTNNB1、髋关节影像学、第 12 个月随访结束时的末次髋关节疼痛视觉模拟评分（VAS）和髋关节功能评分（Harris 评分）；将股骨头塌陷定义为终点事件，当患者疼痛明显缓解、股骨头稳定、骨修

复满意或发生股骨头塌陷时，停止非手术治疗[13]。

1.6 治疗效果评价

参考《股骨头坏死中医疗效评价标准（2019年版）》[14]，主要包含髋关节疼痛视觉模拟评分（VAS）、髋关节功能（Harris）评分和坏死面积评分三方面进行疗效评价。

1.6.1 髋关节VAS评分：以10 cm的标尺为参考，标尺的一端为0，表示无痛；另一端为10，表示剧痛，无法忍受；中间数值表示不同程度的疼痛，数值越大，疼痛越重。患者根据自身疼痛感受在标尺上进行标记，表示疼痛程度，分别于第0个月、第12个月末次随访时评估并记录疼痛程度。

1.6.2 髋关节Harris评分[15]：内容包括疼痛、功能（步态、功能活动），畸形和关节活动度（屈、展、收、内旋、外旋）4个方面，其中满分为100分，>90分为优，80~89分较好，70~79分为良，<70分为差。记录入院时第0个月、第12个月末次随访时的Harris评分。

1.6.3 坏死面积评分：在髋关节正位X线片上，根据坏死面积进行评估，无囊变为0级，0分；坏死面积<15%为Ⅰ级，1分；坏死面积15%~30%为Ⅱ级，2分；坏死面积15%~30%为Ⅲ级，3分，分别于第0个月、第12个月末次随访时行X线进行影像学疗效评估。

1.6.4 研究质量控制：本研究采用单盲法评估，在评估者不知晓试验分组及干预情况下，临床检查和影像学检查结果评价由2名主治及以上职称医师完成，对评价不一致的病例，读片者进行讨论直至达成一致。

1.7 统计学方法

采用SPSS 25.0软件完成数据分析，符合正态分布的计量资料以（$\bar{x} \pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用LSD-t检验。重复测量数据多组间比较采用重复测量方差分析，治疗前后的髋关节Harris评分、坏死面积评分比较采用配对t检验，组间比较采用两独立样本t检验。非正态分布的计量资料以M（P_{25}，P_{75}）表示，治疗前后的组内VAS评分比较采用Wilcoxon检验，组间采用Mann-Whitney U检验。计数资料以相对数表示，组间比较采用χ^2检验，以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象一般情况

本研究共纳入60例SIONFH患者，随访期间无脱落。3组研究对象年龄、性别、身高、体质量比较，差异均无统计学意义（P>0.05），见表1。

2.2 3组研究对象ELISA检测结果

3组研究对象基线RANKL、PDGF-BB、OPG、CTNNB1水平比较，差异均有统计学意义（F=253.7、14.1、54.1、30.6，P<0.05），而VEGFA差异无统计学意义（F=1.1，P>0.05）。组间比较结果显示，对照组、治疗组RANKL、PDGF-BB均高于正常组，OPG、CTNNB1均低于正常组，差异有统计学意义（P<0.05）。对照组和治疗组RANKL、PDGF-BB、VEGFA、OPG、CTNNB1水平比较，差异无统计学意义（P>0.05），见表2。

表1 3组研究对象一般情况比较

Table 1 Comparison of the general situation of the three groups of subjects

组别	例数	年龄（岁）	性别（男/女）	身高（cm）	体质量（kg）
正常组	30	45.4±13.5	20/10	163.2±9.1	63.6±10.3
对照组	30	39.9±14.8	24/6	165.0±8.9	57.9±9.9
治疗组	30	47.8±13.6	24/6	168.4±8.0	63.3±10.3
F（χ^2）值		2.5	1.9[a]	2.8	3.0
P值		0.087	0.382	0.068	0.056

注：[a]为χ^2值。

重复测量方差分析结果示，时间和组别对RANKL、PDGF-BB、VEGFA、OPG、CTNNB1水平存在交互作用（P<0.05），时间和组别对RANKL、PDGF-BB、VEGFA、OPG、CTNNB1水平主效应显著（P<0.05）。其中第6个月治疗组RANKL水平高于对照组，第12个月治疗组PDGF-BB水平高于对照组，第6个月、第12个月VEGFA、OPG、CTNNB1水平高于对照组，差异有统计学意义（P<0.05），见表2。

2.3 治疗效果评价

治疗前，两组患者髋关节VAS评分、Harris评分、坏死面积评分比较，差异无统计学意义（P>0.05）。治疗后第12个月治疗组髋关节VAS评分、坏死面积评分低于对照组，髋关节Harris评分高于对照组，差异有统计学意义（P<0.05）。组内比较结果显示，治疗后第12个月治疗组髋关节VAS评分、坏死面积评分低于治疗前，髋关节Harris评分高于治疗前，差异有统计学意义（P<0.05），对照组髋关节VAS评分、髋关节Harris评分高于治疗前，差异有统计学意义（P<0.05），对照组治疗后第12个月与治疗前坏死面积评分比较，差异无统计学意义（P>0.05），见表3。

3 讨论

SIONFH是目前骨科领域的世界性治疗难题，因糖皮质激素广泛应用于自身免疫性疾病、病毒性肺炎等疾病[16]，并发的SIONFH是导致中青年髋关节残疾原因之一。其中SIONFH所引起的疼痛和功能障碍严重影响患者的生活质量与工作能力，部分病人甚至丧失行走能力，不得不接受人工关节置换术，但是受制于人工关节的使用寿命，以及出现并发症后的治疗复杂性与花费，

表 2 3 组研究对象 RANKL、PDGF-BB、VEGFA、OPG、CTNNB1 水平比较结果（pg/mL）

Table 2 Comparison of RANKL，PDGF-BB，VEGFA，OPG and CTNNB1 levels in the 3 groups

组别	例数	RANKL			PDGF-BB		
		第 0 个月	第 6 个月	第 12 个月	第 0 个月	第 6 个月	第 12 个月
正常组	30	18.27 ± 5.33			61.00 ± 8.40		
对照组	30	38.74 ± 4.00[a]	25.11 ± 5.11	22.07 ± 4.54	73.04 ± 10.65[a]	97.69 ± 5.65	109.76 ± 9.10
治疗组	30	41.47 ± 3.44[a]	58.78 ± 5.70[b]	25.16 ± 7.09	70.29 ± 8.37[a]	100.56 ± 9.10	141.78 ± 12.89[b]
F 值		$F_{交互}$=180.5，$F_{时间}$=233.1，$F_{组间}$=297.4			$F_{交互}$=57.3，$F_{时间}$=481.5，$F_{组间}$=56.6		
P 值		$P_{交互}$<0.001，$P_{时间}$<0.001，$P_{组间}$<0.001			$P_{交互}$<0.001，$P_{时间}$<0.001，$P_{组间}$<0.001		

组别	VEGFA			OPG			CTNNB1		
	第 0 个月	第 6 个月	第 12 个月	第 0 个月	第 6 个月	第 12 个月	第 0 个月	第 6 个月	第 12 个月
正常组	1 973.70 ± 283.10			192.70 ± 13.80			61.97 ± 20.59		
对照组	1932.97 ± 290.10	2 472.16 ± 200.86	2 347.19 ± 124.55	155.08 ± 17.77[a]	210.60 ± 11.62	234.22 ± 14.47	32.77 ± 15.05[a]	79.54 ± 13.47	67.41 ± 12.78
治疗组	2 039.49 ± 260.47	3 144.00 ± 150.10[b]	3 510.47 ± 184.5[b]	159.02 ± 14.33[a]	261.88 ± 20.40[b]	297.79 ± 10.80[b]	34.56 ± 11.78[a]	117.79 ± 10.44[b]	91.30 ± 15.82[b]
F 值	$F_{交互}$=79.9，$F_{时间}$=379.8，$F_{组间}$=450.7			$F_{交互}$=63.7，$F_{时间}$=815.3，$F_{组间}$=302.3			$F_{交互}$=28.4，$F_{时间}$=375.1，$F_{组间}$=114.7		
P 值	$P_{交互}$<0.001，$P_{时间}$<0.001，$P_{组间}$<0.001			$P_{交互}$<0.001，$P_{时间}$<0.001，$P_{组间}$<0.001			$P_{交互}$<0.001，$P_{时间}$<0.001，$P_{组间}$<0.001		

注：RANKL= 血清核因子 κB 受体活化因子配体，PDGF-BB= 血小板衍生生长因子 -BB，VEGFA= 血管内皮生长因子 A，OPG= 骨保护素，CTNNB1= 钙黏蛋白相关蛋白；重复测量方差分析仅对治疗组和对照组进行比较；[a] 表示与正常组比较 P<0.05，[b] 表示与同时间点对照组比较 P<0.05。

表 3 两组治疗前后髋关节 VAS 评分、Harris 评分、坏死面积评分比较（分）

Table 3 Comparison of VAS，Harris score and necrotic area score before and after treatment between the two groups.

组别	例数	髋关节 VAS 评分				髋关节 Harris 评分				坏死面积评分			
		第 0 个月	第 12 个月	Z（$t_{配对}$）值	P 值	第 0 个月	第 12 个月	Z（$t_{配对}$）值	P 值	第 0 个月	第 12 个月	Z（$t_{配对}$）值	P 值
对照组	30	2.00（1.00，3.00）	2.50（1.87，3.00）	–2.52[a]	<0.05	78.73 ± 4.52	81.43 ± 4.94	–4.60	<0.05	2.32 ± 0.86	1.91 ± 0.78	1.74	0.095
治疗组	30	1.50（0.75，3.00）	1.00（0.50，1.50）	–2.45[a]	<0.05	80.47 ± 3.43	86.80 ± 4.28	–9.39	<0.05	2.57 ± 0.62	1.37 ± 0.77	5.73	<0.05
Z/t 值		–0.22[a]	–4.65[a]			1.83	4.62			1.49	3.05		
P 值		0.826	<0.001			0.073	<0.001			0.138	0.003		

注：VAS= 视觉模拟评分，Harris 评分 = 髋关节功能评分；[a] 为 Z 值，余检验统计量值为 t 值。

中青年患者必须谨慎选择手术，因此尽可能促进坏死区骨修复以达到保留自身髋关节目标。既往研究报道，囊性变是坏死区及周围组织在破骨细胞吸收时所发生的一系列修复反应，内在纤维肉芽组织可能具有成骨和成血管能力[17]，笔者所在课题组前期研究发现全髋置换的 SIONFH 患者股骨头病理切片发现囊性变为头内骨小梁吸收区域的肉芽组织，与既往报道一致[18]，并且热图力学构建显示一般囊性变好发于在股骨头中外侧柱，与承重的压力骨小梁的位置大致重合[19]，最终结果会引起力学承载负荷不足，导致塌陷的发生。所以囊性变出现既可降低髋关节力学传导功能成为塌陷的始因，又既可启动骨修复促进成骨[4，17]，因此笔者认为促进囊性变的骨修复反应是对保髋治疗具有重要意义。

目前国内外保髋治疗分为非手术保髋（如药物保髋、限制负重、物理治疗）和手术保髋，其中药物保髋以调节骨代谢、调节脂代谢、调节出凝血功能以及中医药活血化瘀等原则为主[1]，但最终保髋目的都是促进骨修复、缓解疼痛、维持头内稳定、重建髋关节功能，避免或延迟行人工髋关节置换术。相关研究报道，骨修复反应中，RANKL、VEGFA、PDGF-BB、OPG、CTNNB1 是重要的调节因子[20-22]。本研究结果发现第 0 个月时，与正常组相比，对照组和治疗组 SIONFH 患者的血清 RANKL 基线水平表达升高（P<0.05），表明破骨细胞在 SIONFH 囊性变内骨修复中进行骨吸收活动，有文献报道骨修复的启动依赖破骨细胞对坏死区的骨溶解，为修复开辟的道路[23，24]。HE 等[25]发现在 SIONFH 早期破骨细胞介质 RANKL 在血清和坏死区表达水平均有增高，本研究结果与之一致，应用活血通络胶囊治疗后，第 0~6 个月能促进坏死区骨吸收蛋白 RANKL 升高，推测该药能增加坏死区骨吸收，促进了骨修复活动。相关研究报道成血管蛋白在维持血管稳态和股骨头血供中有着重要作用，因为随着修复过程的启动，骨细胞表达的 VEGFA 特异性作用于血管内皮细胞[26]，其特点是能够促进坏死区血管生成[9]，并且 PDGF-BB 作为血管生长因子之一，有研究报道 PDGF-BB 能促进骨髓间充质干细胞增值、迁移及成骨分化，诱导骨形成[27]。肖振等[28]在 SIONFH 成血管基因中也发现 PDGF-BB、VEGFA 差异表达，究其原因可能是随着修复过程的启动，坏死的

骨小梁被破骨细胞逐步吸收，新生血管长入坏死区，为骨修复提供内在的血运支持。值得注意的是，YU 等[29]发现骨细胞不能在距离血管超过 100 mm 处存活，所以学者们普遍认为血管发育总是先于成骨，结合本研究结果发现活血通络胶囊能上调成血管 PDGF-BB、VEGFA 血清蛋白水平，在第 12 个月达到随访的峰值水平，表明该药促进囊性变修复区内的血管生成，为成骨细胞提供了血运支持。到后期修复阶段中，OPG 升高反映此时以成骨为主，而且 OPG 可与 RANKL 竞争来阻断 RANK/RANKL 结合，阻碍破骨细胞分化和信号传导，抑制破骨细胞相应功能[30]，有利于坏死区内新骨形成。研究发现破骨前体细胞分泌的而 CTNNB1 是分泌型糖蛋白 / β - 连环蛋白（Wnt/β-catenin）通路中调控成骨的关键基因，其表达上调能促进骨生成，然而课题组前期研究发现 SIONFH 坏死区内的成骨能力较弱[3，31，32]，本次研究结果发现经活血通络胶囊治疗后，在第 6 个月和 12 个月血清成骨标志 OPG、CTNNB1 蛋白与对照组相比均升高（$P<0.05$），提示囊性变骨修复中成骨作用得到加强，ZHANG 等[33]发现 SIONFH 大鼠模型中初始 β-catenin 高表达，并随着时间增减而减弱，本研究结果与之不一致，笔者考虑可能由于研究对象、囊性变的有无带来差异，因为实验动物较难模拟出 SIONFH 中的囊性变。结合上述分析与本次结果，笔者认为活血通络胶囊对囊性变患者骨修复蛋白的调控顺序为骨吸收 / 成血管 / 成骨。

临床疗效上，经活血通络胶囊联合钙剂治疗后，治疗组末次随访的髋关节 VAS 评分、髋关节 Harris 评分和坏死面积评分较对照组有所改善（$P<0.05$），说明活血通络胶囊能有效改善非手术保髋的 SIONFH 患者的临床症状，并促进囊性变骨修复，一定程度上减少了 SIONFH 股骨头塌陷的风险。对照组中末次随访中髋关节 Harris 评分、坏死面积评分较自身初始有改善，结合血清骨修复蛋白，说明单纯口服补钙和限制负重及活动过程中，对局部骨密度有一定改善，为骨修复提供一定条件[34]；对于疼痛方面，对照组较初次评分有所上升，笔者考虑囊性变的出现虽然提示着坏死区有骨修复反应，但团队专家在前期研究中发现 SIONFH 囊性变与髋部疼痛密切[17]，故骨修复过程及修复不完全可有疼痛的出现，并且骨修复中血运支持的也是相当重要，结合本次实验，相比于活血通络胶囊，碳酸钙对成血管蛋白 PDGF-BB、VEGFA 的调控要弱（$P_{组间}<0.001$），综合上述评价指标，活血通络胶囊配合碳酸钙能更有效促进骨修复，因此笔者认为对照组疼痛评分升高是因为 SIONFH 坏死区骨修复不足及不全，髋关节自身局部应力支撑不够所引起；从中医学角度分析：血瘀贯穿股骨头发病过程，局部气血不通，则“不通则痛”[35]，碳酸钙对于骨骼有维持作用，但无法活血祛瘀通络，所以对照组 VAS 评分有所升高。因此对 SIONFH 采用活血通络疗法能促进坏死区骨修复，并疏通局部气血通畅，“通则不痛”，因此可以缓解疼痛。

此外，本此研究存在一定局限性，如在纳入病例数偏少、随访时间较短及单中心研究，未能长期完整的动态观察骨吸收 / 成血管 / 成骨蛋白的变化；其次，囊性变作为骨修复中有双刃剑作用，下一步研究需结合单细胞测序、全转及空间转录组学进一步探究囊性变的分子生物学机制，并进行大样本、多中心研究以更有力地论证活血通络法对 SIONFH 囊性变骨吸收 / 成血管 / 成骨修复蛋白调控作用。

综上所述，活血通络法能上调 SIONFH 血清 RANKL、PDGF-BB、VEGFA、OPG、CTNNB1 骨修复蛋白的水平，介导“骨吸收 / 成血管 / 成骨”三元骨修复网络，促进 SIONFH 囊性变骨修复作用，并改善髋关节功能、减轻疼痛、促进坏死区面积吸收，为中医药治疗 SIONFH 提供了实验依据和研究方向。

作者贡献：何宪顺负责文章撰写；韦雨柔、何敏聪、林锟、田佳庆、詹芝玮负责统计学处理及表格的绘制与展示；林天烨、何晓铭负责进行数据的收集与整理；何伟、魏秋实提出主要研究目标，负责研究方案的构思、设计与论文修订；魏秋实负责文章的质量控制与审查。

本文无利益冲突。

参考文献

[1] 张长青 . 股骨头坏死保髋治疗指南（2016 版）[J]. 中华老年骨科与康复电子杂志，2016，2（2）：65-70.

[2] COHEN-ROSENBLUM A，CUI Q J. Osteonecrosis of the femoral head[J]. Orthop Clin North Am，2019，50（2）：139-149. DOI：10.1016/j.ocl.2018.10.001.

[3] 沈莹姗，乌日莎娜，庄至坤，等 . 基于病理表型辨析激素性与酒精性股骨头坏死的血瘀证特点[J]. 中华中医药杂志，2021，36（8）：4868-4872.

[4] 王敏，杨伟民，李斯明 . 股骨头囊性变预测激素性股骨头坏死的临床意义[J]. 中华骨与关节外科杂志，2019，12（6）：434-438. DOI：10.3969/j.issn.2095-9958.2019.06.07.

[5] 何晓铭，沈莹姗，庞凤祥，等 . 股骨头坏死患者血瘀证诊断指标的临床调查研究[J]. 中华中医药杂志，2022，37（1）：328-332.

[6] 魏秋实 . 股骨头坏死证候学及中医药治疗适应症的规范化研究[D]. 广州：广州中医药大学，2012.

[7] 魏秋实，沈莹姗，庄至坤，等 . 股骨头坏死络病理论的建立及科学价值[J]. 中华中医药学刊，2021，39（7）：1-4. DOI：10.13193/j.issn.1673-7717.2021.07.001.

[8] HE X M，HE M C，YANG P，et al. The therapeutic effect of Huo Xue Tong Luo capsules in association research circulation osseous（ARCO）stage II osteonecrosis of the femoral head：a clinical study with an average follow-up period of 7.95 years[J]. Front

Pharmacol，2021，12：773758. DOI：10.3389/fphar.2021.773758.
[9] 乌日莎娜，陈晓俊，沈莹姗，等. 活血通络胶囊通过 OPG/RANKL/PDGF-BB 通路对激素性股骨头坏死模型大鼠的干预作用［J］. 中药新药与临床药理，2022，33（4）：433-440. DOI：10.19378/j.issn.1003-9783.2022.04.003.
[10] 吴忠书，韦雨柔，陈晓俊，等. 活血通络胶囊促进骨髓间充质干细胞成骨中的 ERα-Wnt/β-catenin 信号通路［J］. 中国组织工程研究，2022，26（25）：3937-3943.
[11] WEI Q S，HONG G J，YUAN Y J，et al. Huo Xue Tong Luo capsule，a vasoactive herbal formula prevents progression of asymptomatic osteonecrosis of femoral head：a prospective study［J］. J Orthop Translat，2019，18：65-73. DOI：10.1016/j.jot.2018.11.002.
[12] 中国医师协会骨科医师分会骨循环与骨坏死专业委员会，中华医学会骨科分会骨显微修复学组，国际骨循环学会中国区. 中国成人股骨头坏死临床诊疗指南（2020）［J］. 中华骨科杂志，2020，40（20）：945-954. DOI：10.3760/cma.j.cn121113-20200306-00133.
[13] 魏秋实，何晓铭，何伟，等. 非手术保髋治疗 ARCO Ⅱ期股骨头坏死的临床疗效及影响因素分析［J］. 中华骨与关节外科杂志，2022，15（6）：424-430. DOI：10.3969/j.issn.2095-9958.2022.06.05.
[14] 陈卫衡，何伟，赵德伟，等. 股骨头坏死中医疗效评价标准（2019年版）［J］. 中医正骨，2019，31（6）：3-6.
[15] HARRIS W H. Traumatic arthritis of the hip after dislocation and acetabular fractures：treatment by mold arthroplasty. An end-result study using a new method of result evaluation［J］. J Bone Joint Surg Am，1969，51（4）：737-755.
[16] 陈庆，范忠杰，杨梅英，等. 糖皮质激素在新型冠状病毒肺炎患者中应用临床探讨［J］. 中国呼吸与危重监护杂志，2021，20（4）：235-240.
[17] 魏秋实，何伟，张庆文，等. 围塌陷期股骨头坏死不同影像学表现研究［J］. 中国修复重建外科杂志，2021，35（9）：1105-1110.
[18] 刘光波，马海洋，卢强，等. 股骨头骨坏死囊性变位置分布特征［J］. 解放军医学院学报，2019，40（12）：1109-1113，1137. DOI：10.3969/j.issn.2095-5227.2019.12.001.
[19] 田佳庆，何敏聪，韦雨柔，等. 激素性股骨头坏死囊性变分布规律及病理特点［J］. 中国组织工程研究，2023，27（31）：4996-5001.
[20] KIM J M，LIN C J，STAVRE Z，et al. Osteoblast-osteoclast communication and bone homeostasis［J］. Cells，2020，9（9）：2073. DOI：10.3390/cells9092073.
[21] 张志秀，刘静，曾佩芸，等. H 型血管在骨质疏松症中的研究进展［J］. 中国骨质疏松杂志，2022，28（4）：575-579. DOI：10.3969/j.issn.1006-7108.2022.04.020.
[22] HUANG Y S，WAN S，YANG M. Circ_0067680 expedites the osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells through miR-4429/CTNNB1/Wnt/β-catenin pathway［J］. Biol Direct，2021，16（1）：16. DOI：10.1186/s13062-021-00302-w.
[23] GRANCHI D，CIAPETTI G，GÓMEZ-BARRENA E，et al. Biomarkers of bone healing induced by a regenerative approach based on expanded bone marrow-derived mesenchymal stromal cells［J］. Cytotherapy，2019，21（8）：870-885. DOI：10.1016/j.jcyt.2019.06.002.
[24] 马超. 基于 Micro-CT 评价 SIONFH 大鼠病程中骨小梁微观结构变化及活血通络法的干预作用［D］. 广州：广州中医药大学，2021.
[25] HE M C，ZHANG J，CHEN X J，et al. Osteoclastic activity was associated with the development of steroid-induced osteonecrosis of femoral head［J］. Artif Cells Nanomed Biotechnol，2020，48（1）：1036-1046. DOI：10.1080/21691401.2020.1774596.
[26] 刘晓南，余斌. H 型血管在骨发育及骨疾病中作用研究进展［J］. 中国骨质疏松杂志，2023，29（5）：751-757. DOI：10.3969/j.issn.1006-7108.2023.05.025.
[27] 李殿奇. PDGF-BB 调节成、破骨细胞的作用机制及促进骨愈合的实验研究［D］. 武汉：武汉大学，2016.
[28] 肖振，李盛华. 激素性股骨头坏死血管新生相关基因的鉴定及其靶向中药成分筛选验证［J］. 中草药，2023，54（5）：1526-1539. DOI：10.7501/j.issn.0253-2670.2023.05.020.
[29] YU H Y，VANDEVORD P J，MAO L，et al. Improved tissue-engineered bone regeneration by endothelial cell mediated vascularization［J］. Biomaterials，2009，30（4）：508-517. DOI：10.1016/j.biomaterials.2008.09.047.
[30] BOYCE B F，XING L P. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling［J］. Arch Biochem Biophys，2008，473（2）：139-146. DOI：10.1016/j.abb.2008.03.018.
[31] 魏秋实，杨帆，陈晓俊，等. 激素性与酒精性股骨头坏死患者骨标本坏死区域病理与显微结构特点分析［J］. 中国修复重建外科杂志，2018，32（7）：866-872. DOI：10.7507/1002-1892.201711130.
[32] 沈莹姗. 基于不同病因股骨头坏死“血瘀证”的表型差异探讨络病理论的科学价值［D］. 广州：广州中医药大学，2021.
[33] ZHANG C，ZOU Y L，MA J，et al. Apoptosis associated with Wnt/β-catenin pathway leads to steroid-induced avascular necrosis of femoral head［J］. BMC Musculoskelet Disord，2015，16：132. DOI：10.1186/s12891-015-0606-2.
[34] KLUMPP R，TREVISAN C. Aseptic osteonecrosis of the hip in the adult：current evidence on conservative treatment［J］. Clin Cases Miner Bone Metab，2015，12（Suppl 1）：39-42. DOI：10.11138/ccmbm/2015.12.3s.039.
[35] 沈莹姗，陈镇秋，何伟，等. 基于“活血通络法”非手术保髋疗法在全身性多发骨坏死患者的运用［J］. 时珍国医国药，2020，31（6）：1389-1392.

（收稿日期：2023-05-19；修回日期：2023-10-18）
（本文编辑：邹琳）